

16/9/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

003434643

WPI Acc No: 1982-00771E/198201

**Coenzyme-Q 10 prodn. by culturing yeast - in culture medium contg.
linalool**

Patent Assignee: SEKISUI CHEM IND CO LTD (SEKI)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 56154994	A	19811130	JP 8058420	A	19800430	198201 B
JP 87044916	B	19870924				198742

Priority Applications (No Type Date): JP 8058420 A 19800430

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 56154994	A		4		

Abstract (Basic): JP 56154994 A

Coenzyme Q10 may be produced by culturing yeast in the copresence of linalool. Pref. used are e.g. Candida, Torulopsis, Phodotorula, Cryptococcus, Phodosporidium, Schizosaccharomyces, Japhrina, Leucosporidium genus. Culture medium contains as carbohydrate source glucose, hydrocarbon as carbon source and energy source, ammonium salt or organic nitrogen cpd., e.g. corn steep liquor, or yeast extract as nitrogen source. Metal salts such as K salt, Na salt, Mg salt, phosphate, sulphate may be used. Culture may be carried out at pH 1-6, temp. at 25-35 deg.C, with dissolved oxygen concn. lower than 10 ppm by aeration- stirring or shaking culture.

Title Terms: COENZYME-Q; PRODUCE; CULTURE; YEAST; CULTURE; MEDIUM; CONTAIN;

LINALOOL

Derwent Class: B05; D16

International Patent Class (Additional): C12P-007/66; C12R-001/64

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-B02C1; D05-C03; D05-H01

Chemical Fragment Codes (M2):

01 G018 G100 H5 H542 H7 H723 H8 K0 L9 L951 M210 M211 M226 M232 M240
M272 M282 M320 M414 M510 M520 M531 M540 M720 M903 N132 N421 N512
N513 Q233 V0 V801

Derwent Registry Numbers: 0427-S

?

⑫ 公開特許公報 (A)

昭56—154994

⑤ Int. Cl.³
C 12 P 7/66
// (C 12 P 7/66
C 12 R 1/645)

識別記号

庁内整理番号
6760—4B

④ 公開 昭和56年(1981)11月30日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 補酵素 Q_{10} の製造方法

② 特 願 昭55—58420

② 出 願 昭55(1980)4月30日

⑦ 発 明 者 城座論

茨木市水尾4丁目2番26号

⑦ 発 明 者 阪田展次

吹田市藤白台2丁目28番2号

⑦ 発 明 者 森鎌保昌

大阪府三島郡島本町若山台2丁
目2番24号—303

⑦ 発 明 者 太田順造

滋賀県栗太郡栗東町辻388番地

⑩ 出 願 人 積水化学工業株式会社

大阪市北区西天満2丁目4番4
号

明 細 書

1. 発明の名称

補酵素 Q_{10} の製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 補酵素 Q_{10} を含有する酵母菌をリナロールの共存下に培養し、この菌体より補酵素 Q_{10} を採取することを特徴とする補酵素 Q_{10} の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は補酵素 Q_{10} の製造方法に関する。

補酵素 Q は、高等動物から微生物に至るまで動物に広く分布し、既に知られているように、生物の末端電子伝達系の必須成分として重要な役割を果たしている。構造的には6位にイソプレノイド側鎖を有する2,3-ジメトキシ-5-メチル-1,4-ベンゾキノンであつて、側鎖のイソプレノイド基の数によつて補酵素 Q_8 から Q_{10} まで各種の同族体が知られている。これらのなかで補酵素 Q_{10} (以下、 CoQ_{10} と称する。) は、各種疾病に対してすぐれた薬理作用、生理作用を有することが明

らかになるにつれて、医薬品としての需要が増大しつつある。

この CoQ_{10} を得る方法としては、例えばソラネソール等を出発原料として合成する方法も知られているが、多段階の反応を要すると共に、収率が低く、さらに純粋に分離することが困難であるため、工業的に CoQ_{10} を得るには不適當である。また、動植物組織から抽出する方法も知られているが、資源が限られていることや抽出操作が煩雑なこともあつて、やはり工業的には適しない。そのために、菌体内に CoQ_{10} を含有乃至生産する微生物が CoQ_{10} の供給源として着目され、既に種々の方法が提案されているが、 CoQ_{10} が呼吸酵素の一つであるところから、菌体の CoQ_{10} 含有量は一般的には極めて小さく、その分離、精製は必ずしも容易でない。

そこで、本発明者らは、培養液よりの分離の容易さ、菌の無害性等から酵母菌に供給源を求め、単位菌体当たりの CoQ_{10} の含有量を増大させる条件を広範囲にわたつて鋭意研究した結果、酵母菌

の生育培地にリナロールを添加したとき、酵母菌における CoQ_{10} 含有量が高くなることを見出して、本発明に至つたものである。

従つて、本発明による CoQ_{10} の製造方法は、 CoQ_{10} を含有する酵母菌をリナロールの共存下に培養し、この菌体より CoQ_{10} を採取することを特徴とするものである。

本発明において用いる酵母菌は、 CoQ_{10} の生産能を有する限りは特に限定されないが、例えば、キャンディダ(*Candida*)属、トルロプシス(*Torulopsis*)属、ロドトルラ(*Rhodotorula*)属、クリプトコッカス(*Cryptococcus*)属、ロドスポリジウム(*Rhodosporidium*)属、シゾサツカロマイセス(*Schizosaccharomyces*)属、ジャフリナ(*Japhrina*)属、ロイコスポリジウム(*Leucosporidium*)属等に属するものである。

培地は汎用のものでよく、通常、炭素源及びエネルギー源としてグルコース等の炭水化物や炭化水素、窒素源として硫酸、塩安等のアンモニウム塩、コーンステープリカ、酵母エキスの有機窒

(3)

で抽出して CoQ_{10} をヘキサンに転溶し、このヘキサンを蒸発させて CoQ_{10} を得る。この精製は種々の方法によつて行なうことができるが、工業的にはクロマトグラフィーによる精製が有利である。

以上のように、本発明によれば、リナロールの共存下に酵母菌を培養して、菌体中の CoQ_{10} 含有量を高め得たので、 CoQ_{10} の分離、精製が容易となると共に、 CoQ_{10} を高い収率で得ることができる。

以下に本発明の実施例を挙げるが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、実施例においては、 CoQ_{10} の同定は標準品とのペーパークロマトグラフィーの比較によつて行ない、また、その定量はクラフエン法によつた。

実施例 1

グルコース 15 g/ℓ、硫酸 3.0 g/ℓ、 KH_2PO_4 3.6 g/ℓ、 Na_2HPO_4 0.9 g/ℓ、 MgSO_4 0.3 g/ℓ、 FeSO_4 0.05 g/ℓ及び酵母エキス 1.0 g/ℓの組成の培地(pH 6.0)を加熱殺菌した後、キャンディダ・クルバータ(*Candida curvata*) IFO 0732

(5)

素化合物を適宜に併用し、このほかカリウム塩、ナトリウム塩、マグネシウム塩、リン酸塩、硫酸塩等の金属塩類を適宜に併用する。

培養は通常の条件下で行なえばよく、例えば、pHが1~6、温度が25~35℃、溶存酸素濃度が10 ppm以下の条件で通気攪拌又は振とう培養により行なう。

本発明において培地へのリナロールの添加方法、添加時期等は特に制限されず、例えば、培養開始時又は培養中途において一度に添加してもよく、また、菌の生育状況に応じて適宜の回数に分けて添加してもよい。リナロールの添加量も特に制限されるものではないが、通常は生成乾燥菌体1g当りについて1.5~50mgが適する。

このようにしてリナロールの共存下に酵母菌を培養した後、菌体より CoQ_{10} を分離、精製するには、常法による。例えば、先ず培養液を遠心分離等して菌体を分離し、これをピロガロール共存下にアルコール性アルカリでケン化すると共に CoQ_{10} を抽出する。次に、アルコール抽出液をヘキサン

(4)

を30℃で30時間前培養した。この培養液1ℓを上記と同一組成の加熱殺菌した培地100ℓに接種すると共に、第1表に示す量にてリナロールを添加し、500ℓ坂口フラスコ内で30℃、30時間振とう培養した。

培養終了後、培養液を遠心分離して菌体を分離、乾燥し、乾燥菌体2gを水15ℓ、メタノール45ℓ、水酸化ナトリウム3g及びピロガロール0.7gからなる抽出液で80℃、1時間ケン化抽出した。この抽出液をn-ヘキサン75ℓにて3回抽出し、n-ヘキサンを水洗後、減圧溜去し、 CoQ_{10} を定量した。結果を第1表に示す。リナロールを添加しない場合も併せて示す。

第 1 表

リナロール添加量 (mg/培養液1ℓ)	乾燥菌体の CoQ_{10} 含有量 (重量%)	生成乾燥菌体量 (g/培養液1ℓ)
0	0.035	6.15
15	0.050	6.20
50	0.063	6.18
200	0.060	6.03

(6)

実施例 2

ロドトルラ・ムシラギノータ (Rhodotorula mucilaginosa) AHU-3948 を用いた以外は実施例 1 と全く同様にして第 2 表に示す結果を得た。

第 2 表

リナロール添加量 (mg/培養液 1 ℓ)	乾燥菌体の CoQ ₁₀ 含有量 (重量%)	生成乾燥菌体量 (g/培養液 1 ℓ)
0	0.036	6.22
15	0.048	6.20
50	0.062	6.25
200	0.053	6.10

実施例 3

クリプトコッカス・ネオフォルマンス (Cryptococcus neoformans) IFO 1420 を用いた以外は実施例 1 と全く同様にして第 3 表の結果を得た。

(7)

手続補正書 (自発)

昭和 56 年 3 月 13 日

特許庁長官殿

1. 事件の表示

昭和 55 年 特 許 願 第 58420 号

2. 発明の名称

補酵素 Q₁₀ の製造方法

3. 補正をする者

事件との関係

特許出願人

郵便番号

530

住 所

大阪市北区西天満二丁目 4 番 4 号

名 称 (217)

積水化学工業株式会社

代表者 藤 沼 基 利

特許部 TEL 大阪 (06) 305-2181
特許部 東京駐在 TEL 東京 (03) 347-9102



特開昭 56-154994 (3)

3 表

リナロール添加量 (mg/培養液 1 ℓ)	乾燥菌体の CoQ ₁₀ 含有量 (重量%)	生成乾燥菌体量 (g/培養液 1 ℓ)
0	0.029	5.98
15	0.039	5.89
50	0.046	5.91
200	0.042	5.93

特許出願人

積水化学工業株式会社

代表者 藤 沼 基 利

(8)

4. 補正の対象

(1) 明細書の発明の詳細な説明の欄

5. 補正の内容

(1) 明細書第 4 頁第 5 行目に、

「25 ~ 35℃」とあるを、

「20 ~ 40℃」と訂正する。

(2) 明細書第 4 頁第 8 行目乃至第 9 行目に、

「添加方法、添加時期等は特に」とあるを、

「添加は、培地 1 ℓ 当たりについての必要添加量を 1 ml のエチルアルコールに溶解させて添加すればよい。添加時間は特に」と補正する。

(3) 明細書第 6 頁第 3 行目に、

「リナロールを」とあるを、

「リナロールを培地 1 ℓ 当たりについて 1 ml のエチルアルコールに溶解して」と補正する。

(4) 明細書第 6 頁第 6 行目乃至第 7 行目に、

「分離、乾燥し、乾燥菌体 2 g を」とあるを、
「分離し、乾燥菌体 2 g あたり」と補正する。

(5) 明細書第 6 頁第 9 行目に、

「抽出液」とあるを、

「組成の液」と補正す

特開昭56-154994(4)

以 上

- 3 -